Beleg

Band IV Heft 4 Juni 1914

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

V. Babes-Bukarest, **Chr. Barthel**-Stockholm, **A. Bau**-Bremen, **M. W. Beijerinck**-Delft, **W. Benecke**-Berlin, **Ph. Biourge**-Löwen, **A. J. Brown**-Birmingham, **M. Bücheler**-Weihenstephan, **R. Burri**-Liebefeld bei Bern, **A. Calmette**-Lille, **R. Chodat**-Genf, **A. Cluss**-Wien, **F. Czapek**-Prag, **M. Düggeli**-Zürich, **J. Effront**-Brüssel, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **C. Gorini**-Mailand, **R. Graßberger**-Wien, **A. Harden**-London, **H. A. Harding**-New York, **F. C. Harrison**-Ste. Anne de Bellevue, Canada, **F. v. Höhnel**-Wien, **J. Chr. Holm**-Kopenhagen, **F. Hueppe**-Prag, **G. v. Istvánffi**-Budapest, **Orla Jensen**-Kopenhagen, **Alfred Jörgensen**-Kopenhagen, **V. v. Klecki**-Krakau, **M. Klimmer**-Dresden, **A. Koch**-Göttingen, **R. Kolkwitz**-Steglitz-Berlin, **F. Krasser**-Prag, **W. Kruse**-Leipzig, **H. van Laer**-Gent, **F. Löhnis**-Washington D. C., **Ch. E. Marshall**-Amherst, Massachusetts, **R. Meißner**-Weinsberg, **W. Migula**-Eisenach, **H. Molisch**-Wien, **C. Neuberg**-Berlin, **W. Palladin**-Petersburg, **P. Petit**-Nancy, **P. Pichi**-Conegliano, **E. Prior**-Bozen-Gries, **O. Richter**-Wien, **E. Roux**-Paris, **K. Saito**-Dairen (Mandschurei), **A. Schattenfroh**-Wien, **W. Seifert**-Klosterneuburg, **J. Stoklasa**-Prag, Freiherr **v. Tubeuf**-München, **W. Winkler**-Wien, **J. Wortmann**-Geisenheim, **H. Zikes**-Wien

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BERLIN
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1914

Inhalt des 4. Heftes

Für die nächsten Hefte eingegangene Originalabhandlungen:

1. Kita. Zur Frage der Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen. (Universität Tokio.)
2. W. Palladin und H. Millak. Über die Wirkung des elektrischen Stromes auf die Arbeit der Fermente der alkoholischen Gärung. (Universität St. Petersburg.)
3. Alice Breslauer. Das Tyrosinase-Reagens als Mittel zur Feststellung des Grades der Eiweißzersetzung durch Bakterien. (Universität Genf.)
4. Orla Jensen. Über die Milchsäurebakterien und ihre Identifizierung. (Technische Hochschule Kopenhagen.)
5. F. Löhnis. Die Ammonifikation des Cyanamids. (Universität Leipzig.)
6. H. J. Waterman. Stoffwechsel von Aspergillus niger, der Hefe und der Kartoffel.
7. J. Smit. Studien über Lactobacillus fermentum Beijerinck. (Techn. Hochschule Delft.)
8. J. Weese. Studien über Nectriaceen. 3. Mitteilung. (Techn. Hochschule Wien.)

Die „Zeitschrift für Gärungsphysiologie“ erscheint in zwanglosen Heften von je ca. 4 Bogen. Etwa 24 Druckbogen bilden einen Band zum Preise von 20 Mark. Jährlich gelangen 1½ bis 2 Bände zur Ausgabe.

Alle die **Redaktion** betreffenden Zuschriften und Sendungen (Manuskripte, Separatabdrücke, Rezensionsexemplare) sind an den Herausgeber **Professor Dr. Alexander Kossowicz, Wien II, Josef-Gall-Gasse 2,** zu richten, alle geschäftlichen Mitteilungen an die **Verlagsbuchhandlung Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35, Schöneberger Ufer 12a.**

Die Mitarbeiter erhalten für Originalabhandlungen und Kleinere Mitteilungen ein Bogenhonorar von 40 M., für Referate 48 M., für Sammelreferate und Literaturlisten 60 M. — Den Originalarbeiten oder Kleineren Mitteilungen beigegebene Tabellen werden mit 20 M. pro Druckbogen honoriert.

Originalabhandlungen können auch in **englischer, französischer und italienischer Sprache** zur Veröffentlichung gelangen.

Bereits in anderen Zeitschriften in deutscher, französischer, englischer oder italienischer Sprache veröffentlichte Originalabhandlungen werden nicht aufgenommen. Die Herren Autoren werden höflichst gebeten, solche Arbeiten ebenso wie Abhandlungen, deren gleichzeitiges Erscheinen in anderen Zeitschriften in Aussicht genommen wurde, der Redaktion nicht einzuschicken. Autoreferate sind dagegen sehr erwünscht.

Über Benzol-Bakterien.

Von **Richard Wagner.**

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Basel.)

Über die biologische Zersetzung des Benzols weist die Literatur keine und über eine solche seiner Derivate nur wenige Angaben auf. Nägeli (1881, S. 431) fand bei seinen Studien über Ernährungschemismus der niederen Pilze, daß sich in einer bei Zimmertemperatur aufgestellten Nährlösung, der 0,08 % Phenol zugesetzt waren, ziemlich zahlreiche Spaltpilze bildeten, „eine winzige Micrococcusform“. Ferner fanden Roux und Chamberland (1883, S. 1088) bei ihren Versuchen über Asporogenität der Milzbrandbazillen, daß die Bakterien in Lösungen mit 0,08—0,16 % Phenol am Leben blieben, bei 0,25 % jedoch in ca. 8 Stunden starben. Baudet (1911, S. 472) beobachtete Wachstum der Milzbrandbazillen in Bouillon bis 0,1 %, des Bacillus subtilis bis 0,16 %. Altmann und Rauth (1910, S. 629) und nach ihnen Regenstein (1912, S. 286) konstatierten eine Anpassung verschiedener Bakterien an Phenol in Bouillon, so des Staphylococcus pyogenes aureus bis zu 0,28 %, Bacterium coli bis zu 0,22 %, Bacterium thyphi bis zu 0,18 %. Über eine direkte Oxydation von Phenol durch Bakterien ist meines Wissens nur eine einzige Arbeit erschienen und zwar von J. Fowler, E. Andern und F. Lockett (1911, S. 149 ff.). Die Verfasser haben aus Wasserfilteranlagen zwei Bakterienarten kultiviert, Bacillus fluorescens liquefaciens und Bacillus helvolus Zimmermann, die imstande waren, 0,01—0,02 % Phenol in Peptonlösung nach zwei bis einigen Wochen zum Verschwinden zu bringen. Ebenso wurden in 100 ccm einer anorganischen Nährlösung nach Beimpfung mit einigen Tropfen Bouillonkultur des Bacillus helvolus Zimmermann nach 9 Tagen 0,01 % Phenol fast völlig oxydiert.

Über die Zersetzung von Benzoeharz unter Entstehung eines benzol- bezw. phenolartigen Geruchs durch ein Penicillium und die Zersetzung von Benzoesäure berichtet Kossowicz (1911, S. 69).

Da über diese in physiologischer, wie in biologischer Hinsicht gleich wichtige Frage die letzten Jahre keinen weiteren Aufschluß

brachten, habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. A. Fischer, nachdem mir Herr Dr. K. Bassalik das Thema in liebenswürdiger Weise überlassen hatte, eine nähere Untersuchung darüber angestellt, ob und in welchem Umfang Bakterien imstande sind, Benzol, bezw. dessen Derivate zu verarbeiten. Die Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Basel unter Leitung des leider zu früh verstorbenen Herrn Prof. A. Fischer begonnen und unter Herrn Prof. G. Senn zu Ende geführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, allen diesen Herren für die bewährten Ratschläge und für das Interesse, mit dem sie meine Arbeit verfolgten, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

I. Isolierung und Verbreitung von Bakterien, die Benzol, Phenol und deren Derivate verarbeiten.

a) Phenol.

Bei meinen Versuchen ging ich von einer an offener Luft stehenden Mineralnährlösung aus, der 0,05 % Phenolnatrium zugesetzt waren. Bereits einige Tage, nachdem ich diese aufgestellt hatte, zeigte sich Trübung und reichliches Bakterienwachstum.

Das Phenol war nach 14 Tagen verbraucht, Bromwasser erzeugte keinen Niederschlag mehr. Mit dieser Lösung als Impfmaterial wurden nun Agarplatten gegossen und davon die Bakterien auf Agar weiter rein kultiviert.

Die verwendete Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung: K_2HPO_4 0,1 %, $NaNO_3$ 0,1 %, $MgSO_4$ 0,025 %, $FeCl_3$ und $CaCl_2$ Spuren.

An Stelle des $NaNO_3$ kam in der Folge dieselbe Menge NH_4NO_3 zur Verwendung, nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Verarbeitung des Phenols mit dem Ammonsalz schneller vor sich ging, als mit Natriumnitrat.

Zunächst war zu untersuchen, ob bei alleiniger Anwesenheit von Phenol als Kohlenstoffquelle in sterilisierter Nährlösung bestimmte Bakterien zu wachsen und das Phenol zu verarbeiten vermögen.

Zu diesem Zwecke wurden je zwei mit genannter Nährlösung beschickte Erlenmeyerkolben an drei aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert und nach der Sterilisation mit 0,05 % Phenolnatrium versehen. Hierauf wurde mit den aus der offenstehenden Nährlösung erhaltenen Bakterienkulturen geimpft; die Lösungen wurden bei 25° in den Thermostaten gestellt.

Nach 5 Tagen waren zwei mit diesen Bakterien beimpfte Lösungen getrübt. Aus denselben wurden Platten gegossen und die Bakterien isoliert.

Bei den weiteren Versuchen kamen 500 ccm haltende Erlenmeyerkolben zur Verwendung, in die je 200 ccm oben genannter Nährlösung gegeben worden waren. Nach der Sterilisation setzte ich jedem Kolben 0,05 % Phenolnatrium zu, das ich auf steriler Nickelwage (nach Dr. P. Fleissig, Spitalapotheker, Basel) abgewogen hatte.

Sodann wurden je zwei Kolben der Reihe nach beimpft mit: 1. Bakterium aus der ursprünglichen Lösung, 2. Pferdemist, 3. menschlichen Fäces, 4. Urin (einem Ölurinoir entnommen), 5. Wurzelspitzen von Pinus, 6. Gartenerde.

In gleicher Weise wurden Lösungen, welche an Stelle von Phenolnatrium 0,03 % Phenol (entsprechend ca. 0,05 % Phenolnatrium) enthielten, beimpft und sämtliche Kulturen bei 25° in den Thermostaten gestellt. Außerdem ließ ich je 200 ccm Nährlösung und 200 ccm Leitungswasser mit denselben Quantitäten von Phenolnatrium und Phenol unbeimpft und offen ebenfalls bei 25° stehen.

Nach 5—6 Tagen waren alle Lösungen mehr oder weniger getrübt, mit Ausnahme des mit Phenol versetzten Leitungswassers, welches nach Wochen noch klar blieb. Aus den getrübten Lösungen goß ich Platten und kultivierte die Bakterien auf Agar rein. Mit den so erzielten Reinkulturen suchte ich durch Vorversuche festzustellen, ob das als Kohlenstoffquelle dargebotene Phenol tatsächlich und in größeren Quantitäten gänzlich verarbeitet wird. Zu diesem Zwecke beimpfte ich je 200 ccm 0,03 % phenolhaltige Nährlösung mit den isolierten Spezies.

Nachdem im Laufe von 6 Tagen sämtliche Lösungen getrübt waren, kontrollierte ich während 14 Tagen die Verarbeitung des Phenols mittelst Bromwasser und ersetzte das jeweilen verschwundene Phenol, so daß wieder die Anfangskonzentration erreicht wurde.

Nach dieser Zeit waren durchschnittlich 0,15 % = 0,3 g Phenol verarbeitet, indessen die Lösungen eine mehr oder weniger gelbe Farbe annahmen.

Hierdurch war erwiesen, daß das Phenol auch in größeren Mengen von Bakterien verschiedener Herkunft verarbeitet wird.

Es blieb nun noch zu untersuchen, ob die Phenol verarbeitenden Bakterien in der Natur noch weiter verbreitet sind, als aus den ersten Versuchen zu folgern war. Zu diesem Zwecke wurden Phenollösungen mit folgenden Stoffen beimpft: Brot, Fleisch, Kuhmilch, Käse, Haaren,

Kuhmist, Castoreum, Ohrenschmalz, Urin von der Kuh, Urin vom Menschen, vom Pferd und vom Hund, Speichel, Zahnbelag, Straßenstaub, Laboratoriumsstaub, Steinkohlenteer, Thujablätter, Pinusblätter.

Trübung trat mit Ausnahme von den mit Ohrenschmalz, Haaren, Castoreum und Steinkohlenteer beimpften Kulturen innerhalb 3—6 Tagen auf, und früher oder später war das Phenol in sämtlichen Lösungen verbraucht.

Am raschesten verlief die Oxydation bei Impfung mit Milch, Käse und Laboratoriumsstaub, wobei schon am 3. Tage nach der Beimpfung Trübung eintrat; bei Thujablättern erfolgte sie am 5., bei sämtlichen übrigen Lösungen am 6.—8. Tage.

Daraus kann geschlossen werden, daß die Phenol oxydierenden Bakterien in der Natur weite Verbreitung haben.

b) Phenolderivate.

Es war nun zu konstatieren, ob auch Oxyphenole durch Bakterien weiter oxydiert werden.

Zu diesem Zwecke wurden in analoger Weise je zwei 200 ccm Nährlösung enthaltende Kolben mit je 0,03 % Brenzkatechin, Resorzin, Hydrochinon, Phlorogluzin, Pyrogallol und Tannin versetzt.

Da nach Czapek (1905, S. 541) Pinus silvestris Phenol enthält und da durch die vorhergehenden Versuche erwiesen war, daß sich die mit Pinuswurzeln beimpften Lösungen am raschesten trübten, wurden die eben erwähnten oxyphenolhaltigen Lösungen mit einem mittels steriler Pinzette entnommenen frischen Wurzelspitzchen beimpft und bei 25° im Thermostat stehen gelassen.

Nach einigen Tagen zeigten die mit Brenzkatechin und Phlorogluzin versetzten Lösungen eine Trübung, während die Kulturen mit den übrigen Benzolderivaten auch bei wiederholten Versuchen klar blieben. Hydrochinon zeigte anfänglich schwaches Bakterienwachstum, das jedoch nach einigen Tagen aufhörte. Aus den getrübten Lösungen wurden ebenfalls Platten gegossen und die Bakterien auf Agar rein kultiviert.

c) Benzol und einige Homologen.

In gleicher Weise wurden zwei weitere Serien behandelt, mit dem Unterschiede, daß die Kolben nach Zusatz von je 0,03 % Benzol, Toluol, Xylol und Thymol, anstatt mit Wattebausch, mit mit Stanniol überzogenen sterilen Korken verschlossen wurden, um ein Verdunsten der leicht flüchtigen Kohlenwasserstoffe zu verhindern. Eine Serie wurde mit Pinus-

wurzeln, die andere mit Gartenerde beimpft. Mit Ausnahme der benzolhaltigen Kulturen, in denen nach 5 Tagen Trübung eintrat und aus denen ich zwei weitere Bakterienarten rein züchtete, blieben alle Lösungen klar.

Die Benzolkulturversuche hatte ich mit dem Benzol des Reagentienschrankes angestellt, wiederholte sie aber zur Kontrolle mit reinem, thiophenfreiem Benzol von Merck. Da kein Unterschied zu konstatieren war, verwendete ich in der Folge stets gewöhnliches Benzol, nachdem ich dasselbe nach Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure durch Destillation rektifiziert hatte.

Aus den erwähnten Kulturen isolierte ich im Ganzen 6 Bakterienspezies und zwar: 3 aus Lösungen mit Phenol, je 1 aus Brenzkatechin und Phlorogluzin und 2 aus Benzol.

Da dieselben mit den bisher beschriebenen Bakterien nicht identifiziert werden konnten, benannte ich sie folgendermaßen: aus Phenol: Bacterium Phenoli a, b, c; aus Brenzkatechin: Bacterium Brenzcatechini; aus Phlorogluzin: Bacterium Phloroglucini; aus Benzol: Bacterium Benzoli a, b.

Die ganze physiologische Gruppe bezeichne ich als Benzol-Bakterien.

II. Morphologie der neu isolierten Bakterien.

Die zum Zwecke des morphologischen Studiums der rein kultivierten Bakterien verwendeten Nährsubstrate wurden stets einheitlich hergestellt und hatten folgende Zusammensetzung: 1. Nährbouillon aus Rindfleisch mit 1 % Pepton, 2. Nährbouillon + $1^1/_2$ % Agar, 3. Nährbouillon + 10 % Gelatine, 4. Bierwürze mit NH_3 neutralisiert und Zusatz von 2 % Alkohol, 5. Glyzerinlösung, 3 % in miner. Nährlösung, 6. Milchzuckerlösung, wässerig 3 %, 7. Peptonlösung: Pepton 1 %, Dextrose 1 %, Glyzerin 1 %, Spur K_2HPO_4, 8. Traubenzuckeragar: Nähragar mit 2 % Traubenzucker, 9. Kalbshirn: An drei aufeinanderfolgenden Tagen pasteurisiert, 10. Kartoffel: Stücke aus einer großen Kartoffel gestochen, dreimal sterilisiert, 11. Milch: entrahmt und mit Rahm, dreimal pasteurisiert, 12. Tartratagar: Nähragar mit 1 % Natr. tartar.

Außerdem wurden sämtliche Bakterien auf ihre Fähigkeit, Salpeter zu reduzieren, untersucht; hierzu diente folgende Lösung: $NaNO_3$ 0,25 %, Dextrose 1 %, Natriumcitrat 0,5 % in mineralischer Nährlösung.

Sämtliche Nährböden waren von schwach alkalischer resp. neutraler Reaktion.

Für die Versuche der Plasmolysierbarkeit stach ich sämtliche Bakterien frisch ab und untersuchte sie einen Tag alt in 2 %iger Kochsalzlösung.

Die Messung fand im lebenden, nicht gefärbten Zustande statt.

Bacterium Phenoli a (aus Nährlösung mit Phenol erhalten).

Mikroskopisches Aussehen: Einzelne Kurzstäbchen, beiderseits stumpf, abgerundet, doppelt so lang als breit, wenige fast so breit als lang, im Teilungsstadium gleich lang wie breit. In älteren Kulturen bilden sich Fäden von 3, 4 oder 5 Zellen. Länge 2,7 μ, Breite 1,5 μ. Eigenbewegung: Keine. Färbbarkeit: Leicht färbbar, auch nach Gram. Gelatineplatte: Zwei Tage alt, Kolonien ca. 1 mm Durchmesser, rund, weißlich, durchscheinend, nach 8 Tagen unverändert; 80fache Vergrößerung: ganzrandig, rund, braun, fein punktiert, etwa in der Mitte der Kolonie eine dunkle Partie, in welcher die Punktierung deutlicher sichtbar wird. Gelatinestich: Zwei Tage alt, Nagelknopf, Belag weiß, 3 mm Durchmesser, glänzend, schwach grubig punktiert, beinahe rund. Band oben etwa 2 mm breit, nach unten sich zuspitzend, perlschnurartig. Nach 5 Tagen Oberfläche beinahe oval, nierenförmig, 9 mm Durchmesser. Auflage eben, nicht eingesunken. Gelatine wird nicht verflüssigt, nach 20 Tagen bedeckt die Kultur beinahe die gesamte Oberfläche. Agarplatte: 5 Tage alt, Kolonien 2—6 mm Durchmesser, beinahe kreisrund mit schwachen Einbuchtungen, fettglänzend weiß, mit einem Stich ins gelbliche; etwas erhaben, Rand glatt, nach 10 Tagen unverändert. 80fache Vergrößerung: Zentrum hellbraun, vom Zentrum gegen die Peripherie zu strahlig verlaufend und heller werdend. Tiefenkolonien homogen, undurchsichtig, ganz schwach gezackt. Agarplatte mit Kalziumkarbonat: Wachstum wie auf reinem Agar ohne Säurefelder. Agarstrich: 2 Tage alt: Belag saftig glänzend, weißlich, verläuft gleichmäßig breit längs des Striches, verbreitert sich nach 8 Tagen unten keulenartig, Auflage kräftiger, Kondenswasser trübe. Bouillon: Nach 3 Tagen kräftiges Wachstum, hauptsächlich am Rande der Oberfläche; ganze Flüssigkeit schwach trübe, geringer Bodensatz. Kartoffelkultur: 2 Tage alt: dicker glänzender Belag, weiß, bedeckt fast die ganze Oberfläche; am Rande körnig, wird nach 14 Tagen schmierig. Milchkultur: Mit Rahm nach 24 Stunden bei 25° sauer, nach 48 Stunden koaguliert; entrahmt nach 24 Stunden koaguliert sauer, das Kasein zu einem, sich trocken anfühlenden Klumpen zusammengeballt. Bierwürze: Nach einem Tag stark getrübt, sauer, Milchsäurereaktion (nach Uffelmann) positiv. Glyzerinlösung: Nach 3 Tagen: Wachs-

tum gut, Reaktion sauer, Bakterien schön entwickelt, mit Polkörnern. Peptonlösung: Nach 24 Stunden trübe, keine Milchsäurereaktion. Traubenzuckeragar: Bei 25° einige wenige Gasblasen. Bei 37° ebenso, Agar wenig getrübt. Traubenzuckergelatine: Bei 25° starke Gasentwicklung, ein Teil der Gelatine wird durch die Gasblasen bis zum Wattebausch emporgehoben. Kalbshirn: Wachstum schwach, nach 5 Tagen tritt starker Ammoniakgeruch auf, Reaktion alkalisch. Tartratagar: Wachstum kräftig, keine Schwarzfärbung. Plasmolyse tritt ein. Chemische Leistungen: Nitritbildung tritt bereits nach 2 Tagen auf, nach 6 Tagen braust die mit Kaliumjodid versetzte Lösung bei Zusatz von verdünnter Schwefelsäure unter Gelbfärbung auf. Schwache Indolbildung. Gasentwicklung auf Traubenzuckeragar und -gelatine. Wächst auf Phenol und Brenzkatechin.

Bacterium Phenoli b (aus Pferdemist und menschlichen Fäces).

Mikroskopisches Aussehen: Zwei Tage alt: Kleine Kurzstäbchen, wenig länger als breit, viele fast kokkenförmig, meist einzeln, seltener in Teilung begriffen. Länge 2 μ, Breite 1,5 μ. Keine Eigenbewegung. Färbbarkeit: Leicht, auch nach Gram. Gelatineplatte: Zwei Tage alt: Kolonien 0,5—1,0 mm Durchmesser, weiß, wenig erhaben, beinahe rund. 80fache Vergrößerung: Beinahe kreisrund, scharf glattrandig, gelb, vollständig gleichmäßig ohne Zeichnung, mit feiner Punktierung. Tiefenkolonien gleich, nur kleiner und dunkler. Gelatinestich: Zwei Tage alt: Nagelknopf, fast dreieckig, weiß, glänzend, 2 mm Durchmesser, schwache Einsenkung in der Mitte der Kolonie, nach 5 Tagen wird die Kolonie etwas breiter; schmales, gleichmäßiges, ca. 1 mm breites Band. Gelatine wird nicht verflüssigt. Agarplatte: Zwei Tage alt: gleichmäßig weiße Kolonien von 2—3 mm Durchmesser, rundlich bis rund, am Rande durchscheinend, etwas erhaben, nach 10 Tagen unverändert. 80fache Vergrößerung: Aufliegende Kolonien schön kreisrund, gleichmäßig fein punktiert, gelbbräunlich, werden gegen die Mitte dunkler, nach 3 Wochen gekörnt. Tiefliegende Kolonien wetzsteinförmig, groß gezackt, homogen dunkelbraun, nach 10 Tagen nicht verändert, etwas größer. Agarplatte mit $CaCO_3$: Kolonien weiß, 4 mm Durchmesser, keine Säurefelder. Agarstrich: Zwei Tage alt: Belag mattglänzend, weißlich, schwach gezähnt, nicht sehr erhaben. Kondenswasser klar. Bouillonkultur: Nach dreiTagen: Ganze Flüssigkeit schwach trübe, geringer Bodensatz. Kartoffelkultur: Nach zwei Tagen: Belag gelblich, Wachstum sehr schwach, ganz dünne Auflage, fast über die ganze Oberfläche ver-

breitet. Substrat selbst grau verfärbt, mikroskopisch scheinen die Bakterien größer wie auf Agar. Milchkultur: Mit Rahm innerhalb 8 Tagen bei 25° nicht koaguliert, entrahmt nach 6 Tagen fadenziehend, Reaktion sauer. Bierwürze: Nach 8 Tagen noch klar, schwach sauer. Keine Milchsäurebildung. Glyzerinlösung: Keine Gasbildung, Wachstum fraglich, Reaktion neutral, nach drei Wochen Flüssigkeit klar, mit ganz geringem Bodensatz. Peptonlösung: Wachstum minimal. Traubenzuckeragar: Bleibt klar, keine Gasblasen. Traubenzuckergelatine: Bleibt vollständig klar, ohne Gasbildung. Kalbshirn: Wachstum gut, Bakterien groß, beinahe kokkenförmig, kein NH_3-Geruch. Tartratagar: Wachstum gut, ohne Schwarzfärbung. Plasmolyse tritt ein. Nitritbildung: Keine Nitritbildung. Chemische Leistungen: Wächst auf Phenol.

Bacterium Phenoli c (aus Urin und Gartenerde).

Mikroskopisches Aussehen: Zwei Tage alt: Ganz kurze dicke Stäbchen, beinahe kokkenförmig, meist einzeln, bei älteren Kulturen zu zweien, nie tetradenförmig; größere Partien in traubenförmigen Haufen, Länge 1,5—2 μ, Breite 1—1,2 μ. Färbbarkeit: Leicht färbbar, auch nach Gram. Keine Eigenbewegung. Gelatineplatte: Zwei Tage alt: Kolonien bis 2 mm Durchmesser, milchig, weiß, wenig erhaben, rundlich. 80fache Vergrößerung: Oberflächen-Kolonien nicht punktiert, sondern ungleichmäßig gekörnt, feinwellig, gleichmäßig gelblich, am Rande etwas heller, Tiefenkolonien dunkelbraun, mit hübscher Pantherzeichnung. Gelatinestich: Zwei Tage alt: Belag ca. 2 mm breit, 3 mm lang, matt glänzend, flach, weiß. Rand etwas verdickt. Band verschmälert sich nach unten rasch, nach 5 Tagen bis zum Grund gleichmäßig ca. 1 mm breit. Belag zeigt radiäre Streifung, die nach 20 Tagen schön gleichmäßig strahlig verbreitet ist. Gelatine wird nicht verflüssigt. Agarplatte: 3 Tage alt: Kolonien beinahe rund, 2—3 mm Durchmesser, glänzend weißlich, etwas erhaben. 80fache Vergrößerung: Scharf umrandet, ganzrandig, gegen das Licht gehalten perlmutterartig durchscheinend, am Rande fein punktiert; gegen die Mitte zu werden die Punkte gröber und dunkler. Tiefenkolonien fast oval, grob punktiert, dunkelbraun mit Pantherzeichnung. Agarplatte mit $CaCO_3$: Die Kolonien zeigen kein von der gewöhnlichen Agarplatte differierendes Aussehen, sind etwas kleiner, nur 1—1,5 mm Durchmesser. Agarstrich: Auflage saftig glänzend, Belag zäh, Kondenswasser klar, kein Bodensatz, Band ca. 1 mm nach beiden Seiten gleich breit, glattrandig, etwas wellig. Bouillonkultur: Nach 3 Tagen kaum getrübt,

geringer Bodensatz. Kartoffelkultur: Nach 2 Tagen Belag saftig, schmutzig gelblichbraun, bedeckt etwa $^{3}/_{4}$ der ganzen Fläche, Bakterien bereits nach 2 Tagen in großen Haufen, selten einzeln. Milchkultur: Mit Rahm nach 8 Tagen bei 25^{0} nicht, bei 37^{0} koaguliert, dagegen entrahmt nach 5 Tagen bei 25^{0} koaguliert. Bierwürze: Nach 2 Tagen noch klar, nach 6 Tagen schwach trübe und etwas sauer. Glyzerinlösung: Keine Gasbildung, Wachstum minimal, Reaktion schwach sauer. Peptonlösung: Wird schwach getrübt, keine Milchsäurereaktion. Traubenzuckeragar: Keine Gasblasen, Agar bleibt klar, Wachstum gut. Traubenzuckergelatine: Wachstum wie auf Agar. Kalbshirn: Kein Wachstum. Tartratagar: Wachstum kräftig, ohne Schwarzfärbung. Plasmolyse tritt nicht ein. Chemische Leistungen: Wächst auf Phenol.

Bacterium Brenzcatechini (aus Nährlösung mit Brenzkatechin und Pinuswurzel).

Mikroskopisches Aussehen: Kokkenartige Kurzstäbchen, auf Gelatine meist zwei beisammen, selten einzeln; auf Agar beinahe immer einzeln, bildet in älteren Kulturen Ketten; oft perlschnurartig. Länge 2 μ, Breite 1,5 μ. Keine Eigenbewegung. Färbbarkeit: Leicht färbbar, auch nach Gram. Gelatineplatte: 2 Tage alt: Kolonie ca. 1 mm Durchmesser, weiß, rund; nach 5 Tagen bis 3 mm; ältere Kulturen schwach rosa. 80fache Vergrößerung: Rand bis etwa $^{1}/_{3}$ des Radius weiß; gegen das Zentrum werden die Kolonien hellgelb bis braun; nach 4 Wochen gleichmäßig dicke Auflage, die im Zentrum stark gekörnt, nach dem Rande zu fein punktiert ist. Viele Kolonien zeigen gewellte, eingebuchtete, konzentrische Schichten und häufig radiär gestreifte Zuwachszone. Gelatinestich: Nach zwei Tagen: Nagelknopf, beinahe weiß, ca. 1 mm Durchmesser, schwach glänzend, etwas erhaben, Band etwas zerrissen, nach unten glatt; nach 5 Tagen zeigt der Belag ganz schwach gelbliche Färbung und schöne Radiär- und Längsstreifung; nach 20 Tagen ist die Kolonie schön strahlig. Gelatine wird nicht verflüssigt. Agarplatte: 5 Tage alt: Kleine sich langsam entwickelnde Kolonien, weißlich, rund, Durchmesser ca. $^{1}/_{2}$ mm, selten bis 1 mm; Tiefenkolonien kreisrund, hellgelb. 80fache Vergrößerung: Gelbbraun, sehr fein punktiert, fast ganzrandig. Agarplatte mit $CaCO_3$: Nicht zu unterscheiden von gewöhnlicher Agarplatte. Agarstrich: 2 Tage alt: Auflage saftig glänzend, weißlich, bandförmig, etwa 5 mm breit, verschmälert sich nach oben, ist wenig gewellt. Kondenswasser klar, kein Bodensatz. Bouillonkultur: Nach zwei Tagen gleichmäßig trübe. Kartoffelkultur: Wachstum kräftig, ziemlich dicke, schmutzig grün-

lichgraue Auflagerung, nach 48 Stunden Substrat gelbbraun verfärbt, Kokkenform tritt fast ganz zurück, nur einzelne Bakterien zeigen noch eine solche. Milchkultur: Mit Rahm nach 4 Tagen bei 25^0 koaguliert. Ohne Rahm nach 5 Tagen. Molken trübe, sauer, starker Geruch nach Käse. Bierwürze: Nach einem Tage stark trübe, sauer, Milchsäurebildung. Glyzerinlösung: Keine Gasentwicklung, nach 8 Tagen klar, minimaler Bodensatz, schwach sauer. Peptonlösung: Nach 24 Stunden stark trübe, Reaktion sauer, Milchsäurebildung. Milchzuckerlösung: Kein Wachstum. Traubenzuckeragar: Keine Gasentwicklung, Wachstum gut. Traubenzuckergelatine: Ebenfalls keine Gasentwicklung, gutes Wachstum. Kalbshirn: Kaum sichtbares Wachstum. Tartratagar: Nach 8 Tagen kräftiges Wachstum. Nitritbildung: Keine. Plasmolyse: Tritt nicht ein. Chemische Leistungen: Milchsäurebildung in Bierwürze und Pepton. Wächst auf Brenzkatechin und Phenol.

Bacterium Phloroglucini (aus Nährlösung mit Phlorogluzin und Pinuswurzel).

Mikroskopisches Aussehen: Nach einem Tage: Einzelne Kurzstäbchen, selten Fäden bildend, in älteren Kulturen vereinzelte lange unseptierte Fäden; Stäbchen meist doppelt so lang als breit, gerade. Länge 2,5 μ, Breite 1,3—1,5 μ. Ältere Kulturen zeigen größere, traubenförmige Konglomerate, Sporenbildung war nicht zu konstatieren. Eigenbewegung: Viele zeigen zitternde Bewegung; hin und wieder bemerkt man jedoch einzelne, sich schnell fortbewegende Stäbchen: Geisselfärbung gelang nicht. Färbbarkeit: Leicht mit Anilinfarben, ebenso nach Gram. Gelatineplatte: Nach 2 Tagen: Kleine rundliche gelblichweiße Kolonien, 1—2 mm Durchmesser; am dritten Tage beginnt Verflüssigung und allmählich schalenförmige Einsenkung. Gelatinestich: Nach 3 Tagen bildet sich eine kleine flache Einsenkung, die sich verbreitert, nach 5 Tagen die Glaswand erreicht und hierauf zylinderförmig die Gelatine verflüssigt. Nach 3 Wochen $^1/_3$ des Inhaltes verflüssigt; auf der nicht verflüssigten Schicht zeigt sich ein gelblicher Bodensatz. Agarplatte: Kulturen rundlich, mit Einbuchtungen, glattrandig, weißlich, ca. 3 mm Durchmesser. 80fache Vergrößerung: Aufliegende Kolonien fein punktiert, strahlig, werden gegen das Zentrum zu dunkler; Tiefenkolonien oval, fast eiförmig, gleichmäßig gelblich. Agarplatte mit $CaCO_3$: Kolonien durchsichtig, wenig erhaben, 2 mm Durchmesser. Agarstrich: Nach 2 Tagen: Wachstum langsam, verbreitert sich unten nach beiden Seiten, wächst links und rechts der Glaswand hinauf, Belag weißlich, glänzend, stellenweise verbreitert, wird dann wieder schmäler.

Kondenswasser klar, geringer Bodensatz. Bouillonkultur: Nach zwei Tagen klar, nach 5 Tagen schwach trübe, geringer Bodensatz. Kartoffelkultur: Nach 24 Stunden Wachstum kaum bemerkbar, ganz dünner gelblichweißer, die ganze Oberfläche bedeckender Belag, der nach 10 Tagen etwas dicker und zugleich zäher, schleimiger und fadenziehend wird. Substrat selbst gelbgrün verfärbt, Geisselfärbung gelang auch hier nicht. Milchkultur: Milch ist auch nach 20 Tagen bei 25° noch nicht koaguliert, weder entrahmt, noch mit Rahm; Reaktion eine Spur sauer. Bierwürze: Nach einem Tage trübe, schwach sauer, nach 8 Tagen dünnes durchsichtiges Häutchen auf der Oberfläche, schwache Milchsäurereaktion. Glyzerinlösung: Wachstum nach 3 Tagen gering, Reaktion schwach sauer, ebenso nach 8 Tagen. Nach 3 Wochen geringer Bodensatz. Milchzuckerlösung: Kein Wachstum. Peptonlösung: Wachstum gering. Traubenzuckeragar: Keine Gasbildung, Wachstum gut, Agar klar. Traubenzuckergelatine: Wie Agar. Kalbshirn: Wachstum minimal. Tartratagar: Wachstum kräftig. Plasmolyse erfolgt sehr deutlich. Chemische Leistungen: Milchsäurebildung in Bierwürze. Nach 3 Tagen schwache Nitritbildung. Nach 6—8 Tagen stärker, Reaktion sauer. Wächst auf Phlorogluzin.

Bacterium Benzoli a (aus Nährlösung mit Benzol und Gartenerde) ähnlich dem Mycobacterium Phlei, säurefestem Bacillus b Möller, bezogen von Král, Wien.

Mikroskopisches Aussehen: Stäbchen von allen möglichen Formen, meist geknickt oder gebogen, stark lichtbrechend. Breite 0,8—1,0 μ. Länge der einzelnen Stäbchen 2 μ, meist kettenbildend. Keine Eigenbewegung. Färbbarkeit: Nach Gram und mit Anilinfarben leicht färbbar. Gelatineplatte: 3 Tage alt: weiße, rundlich bis langgestreckte Kolonien, bis 6 mm Durchmesser. 80fache Vergrößerung: Äußerer Rand gewellt, oft feiner oder gröber gezackt, manchmal etwas lappig; gegen die Mitte ist der Rand deutlich abgegrenzt, der innere Teil oft bis zur Mitte ungleichmäßig gekörnt. Tiefenkolonien lassen diesen Rand weniger deutlich erkennen, sind rundlich; Rand heller gelb, als die mittleren Partien, Zwischenzone ungleichmäßig. Gelatinestich: 2 Tage alt: Porzellanweiß, 1,5 mm Durchmesser, beinahe rund, nach der Mitte zu gewölbt; Rand glatt, verschmälert sich nach unten wenig. Nach 6 Tagen tritt eine schwache Rosafärbung auf, die nach 14 Tagen deutlicher wird. Nach 5 Tagen wird die Auflage nach der Mitte zu stark erhaben, im Zentrum ca. 1 mm hoch. Die Kolonie zeigt gewöhnlich die Form einer 8, deren oberes Teilstück 1 mm, das untere 3 mm Durchmesser aufweist. Agarplatte: 3 Tage alt: Kleinste Kolonien 1—3 mm

Durchmesser, größte 2,5 cm; glänzend, weißlich, mit einem Stich in schmutzig-hellgrau; alle möglichen Formen: rund, oval, meist Fladen bildend, die wie verlaufener Käse aussehen; nach 8 Tagen Bildung eines ziegelroten Pigmentes. 80fache Vergrößerung: fein punktiert, glattrandig, kein Zentrum zu erkennen, durchweg homogen. Agarplatte mit $CaCO_3$: Wachstum wie auf Agar, gelblichrote bis ziegelrote Fladen; keine Säurefelder. Agarstrich: 1 Tag alt, wächst rasch; Belag saftig glänzend, von weiß-gelblicher Farbe, Band schmal, ganzrandig. Kondenswasser klar. Bodensatz wird nach 6 Tagen gelbrosa, der ganze Belag ebenso nach etwa 14 Tagen. Bouillonkultur: Nach drei Tagen trübe, starker schleimiger Bodensatz. Kartoffelkultur: Nach 2 Tagen: Wachstum kräftig, Auflage erhaben, dick, etwas wellig, gleich breit auf beiden Seiten des Striches, Pigmentbildung schmutzig, orangegelb; Bakterien sind meist als einzelne Stäbchen ausgebildet, länger und dünner als auf Agar, bilden kurze Ketten von höchstens drei bis vier Individuen, nur in älteren Kulturen längere Fäden. Milchkultur: bei 25^0: Mit Rahm, nach 2 Tagen schwach sauer, nach 10 Tagen zeigt die ganze Milch einen Stich ins Orangegelbe, wird nicht koaguliert, weder entrahmt noch mit Rahm. Bakterien zum Teil kolbig angeschwollen. Bierwürze: Nach 3 Tagen noch klar, nach 8 Tagen schwach getrübt, etwas sauer, keine Milchsäurebildung. Glyzerinlösung: Wachstum anfänglich schlecht, die Lösung ist nach 3 Tagen noch neutral; keine Gasbildung; nach 10 Tagen bildet sich ein starker Bodensatz, der erst weiß, nach 3 Wochen rosa wird. Auf der Oberfläche entsteht nach einigen Tagen ein Rosahäutchen, das beim Schütteln zerreißt und sich an die Wandungen des Glases ansetzt. Peptonlösung: Nach 24 Stunden ist die Lösung stark getrübt, und zeigt schwach saure Reaktion, nach 3 Wochen starker, gelbroter Bodensatz. Keine Milchsäurereaktion. Traubenzuckeragar: Keine Gasentwicklung, weder bei 25^0 noch bei 37^0. Wachstum gut. Traubenzuckergelatine: Verhalten wie auf Traubenzuckeragar. Kalbshirn: Wachstum kräftig, der Belag wird mit der Zeit rosa, nach 14 Tagen ist die ganze Masse verfärbt, Bakterien etwas kleiner, mehr einzelne Stäbchen von geknickter Form, weniger zahlreich und beinahe nicht mehr lichtbrechend. Tartratagar: Nach 14 Tagen Wachstum gut, keine Schwarzfärbung. Keine Plasmolyse. Chemische Leistungen: Indolbildung nach 3 Tagen in Spuren, nach 6—14 Tagen etwas stärker. Wachstum auf der Nitratlösung gut, am Rand und auf der ganzen Oberfläche dichter Belag von Bakterien, die beim Schütteln in Strähnen zu Boden sinken. Nach 14 Tagen schön rosafarbener Bodensatz. Wächst auf Benzol, Phenol und Brenzkatechin. 1 Minute bei 60^0 erhitzt noch

gut auf Agar entwickelt. 1 Minute bei 80° erhitzt ebenfalls entwickelt, bei 100° dagegen nicht mehr.

Bacterium Benzoli b aus Nährlösung mit Benzol und Pinuswurzel, ähnlich dem Mycobacterium lacticola (säurefestem Bacillus II Möller), bezogen von Král, Wien.

Mikroskopisches Aussehen: Zeigt alle möglichen Formen, gerade, geknickt, gebogen, zum Teil auch zu Fäden vereinigt; diese zuweilen verzweigt. Einzelstäbchen doppelt so lang als breit, häufig 8, 10—12 aneinander gereiht, Länge 2 μ, Breite 1—1,25 μ. Bildet in Lösungen lange, zum Teil verzweigte, an Streptothrix erinnernde Fäden, schwer benetzbar. Keine Eigenbewegung. Färbbarkeit: Färbung gelingt leicht mit Anilinfarben und nach Gram. Gelatineplatte: Wächst langsamer wie auf Agar, Kolonien bis 5 mm Durchmesser, weiß, rundlich, längere Formen, Rand gewellt, erhaben. 80fache Vergrößerung: Kolonien wellig, fädig, nach der Mitte zu verdickt, Rand hellgrau, gegen das Zentrum zu braun, gekörnt. Tiefenkolonien homogen linsenförmig, braun. Gelatinestich: Nach 3 Tagen: Kolonie glänzend, beinahe rund, etwas erhaben, weiß, nach 8—10 Tagen schwach gelblich mit einem Stich in rosa. Band gleichmäßig breit bis unten, glattrandig. Agarplatte: 2 Tage alt: runde Kolonien, 0,5—1 cm Durchmesser, glänzend weiß, mit einem Stich ins Gelbliche oder Hellgraue, am Rande meist erhaben, gegen das Zentrum oft gefurcht. Agarplatte mit $CaCO_3$: Wachstum besonders charakteristisch. Nach 1—2 Tagen sind die Kolonien 1—3 mm im Durchmesser, kreisrund, porzellanweiß glänzend, mit erhabenem Zentrum, viele sind ungleichmäßig, zum Teil tief gefurcht. Nach 8 Tagen werden die nun etwa 4—5 mm großen Kolonien rosettenförmig, andere rund, mit kegelförmiger Erhöhung im Zentrum, einige zeigen erhabenen Rand, wieder andere wellige Erhebungen bis gegen die Mitte. Tiefenkolonien wetzsteinförmig, gesägt, feinfaserig, dunkelbraun, homogen. Mikroskopisches Aussehen: Reichliche Verzweigungen, zum Teil lange Fäden, Bakterien kolbig angeschwollen. Agarstrich: Nach 2 Tagen: Wächst den Strich entlang körnig, häufig auch an beiden Rändern, Belag ist anfänglich weiß, saftig glänzend, und wird später schwach gelblich, bis rosa. Kondenswasser klar, mit einem Häutchen bedeckt, nach etwa 10 Tagen rosa Pigmentbildung im Bodensatz. Bouillonkultur: Nach 2 Tagen gleichmäßig trübe mit Bodensatz. Kartoffelkultur: Wachstum üppig nach 36 Stunden; Pigmentbildung nicht so deutlich, wie bei Bacterium Benzoli a; Farbe mehr schmutzig graugelb mit einem Anflug von violett, Auflage wird bald hart und trocken. Mikroskopisches Aussehen: Stark licht-

brechend, Individuen von den verschiedensten Formen, ähnlich wie auf Agar. Milchkultur: Nach 2 Tagen sauer, wird bei 25° nicht koaguliert, weder mit Rahm, noch entrahmt. Nach 3 Wochen rosa Haut auf der Oberfläche, die sich beim Schütteln an die Wandungen ansetzt; stark rosa bis gelbroter Bodensatz. Bierwürze: Nach einem Tage stark trübe, Reaktion sauer, Milchsäurebildung schwach. Glyzerinlösung: Nach 3 Tagen klar, schwach sauer, geringer Bodensatz; nach 3 Wochen stark rosa bis gelbroter Bodensatz, Reaktion schwach sauer. Milchzuckerlösung: Geringes Wachstum, keine Milchsäurebildung. Peptonlösung: Nach 34 Stunden trübe, wenig sauer, keine Milchsäure. Traubenzuckeragar: Weder bei 25° noch bei 37° Gasbildung. Wachstum gut. Traubenzuckergelatine: Wie bei Traubenzuckeragar. Kalbshirn: Wachstum langsam, Bakterien kleiner, beinahe keine geknickten Formen und Fäden mehr, nicht mehr lichtbrechend. Tartratagar: Wachstum kräftig, keine Schwarzfärbung. Plasmolyse: Erfolgt nicht mit NaCl, jedoch Schrumpfung des Plasmas in Methylenblaulösung. Bei 60° 1 Minute in Wasser erhitzt, entwickeln sich die Bakterien nach Überimpfung auf Agar noch gut, bei 80° jedoch nicht mehr. Chemische Leistungen: Indolbildung und Nitritbildung stark, Reaktion sauer. Auf allen Nährböden schwache bis stärkere Pigmentbildung. Wächst mit Benzol und Phenol in saurer und alkalischer Lösung; mit Brenzkatechin in saurer Lösung. Schwach mit Hydrochinon.

III. Physiologie der Benzol-Bakterien.

1. Die Verarbeitung des Phenols.

a) Maximalkonzentration.

Zur Feststellung der Maximalkonzentration, bei welcher die Phenolbakterien sich zu entwickeln vermögen, wurden in je 50 ccm sterile Nährlösung Phenol, resp. Phenolnatrium gebracht, und zwar in Konzentrationen von 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,075, 0,1 und 0,15 %. Dann impfte ich die Lösungen der Reihe nach je mit Bacterium Phenoli a, b und c, sowie mit Benzolbacterium a, und ließ die Kulturen bei 25° im Thermostaten stehen.

Es ergaben sich folgende Resultate:

	Phenol	Phenolnatrium
Bacterium Phenoli a wächst noch bei Konzentration von	0,06 %	0,075 %
„ „ b „ „ „ „ „	0,06 %	0,1 %
„ „ c „ „ „ „ „	0,05 %	0,05 %
„ Benzoli a „ „ „ „ „	0,05 %	0,1 %

Bei Verwendung einer höheren Anfangskonzentration findet kein Wachstum statt resp. es wird dasselbe, falls schon fortgeschritten, unterbrochen und die Bakterien sterben ab.

b) Menge des verarbeiteten Phenols.

Zu je 2 Litern sterilisierter Nährlösung, von denen die eine als N-Quelle $NaNO_3$, die andere NH_4NO_3 enthielt, setzte ich nach dem Erkalten 0,03 % = 0,6 g Phenol zu, und beimpfte sie mit Bacterium Phenoli a.

Nach dem Verbrauch des Phenols, was etwa 4—5 Tage in Anspruch nahm, setzte ich jeweilen eine gleiche Menge zu und zwar so oft, bis das zuletzt beigefügte Phenol nicht mehr verarbeitet war.

Die Verarbeitung von 14 g Phenol nahm bei der angegebenen Konzentration und bei Anwendung von $NaNO_3$ 62 Tage in Anspruch; in NH_4NO_3 wurden in 54 Tagen 17 g oxydiert. Die anfänglich farblosen Lösungen nahmen nach 10—14 Tagen eine gelbliche Farbe an, die gegen das Ende des Verarbeitungsprozesses dunkelgelb wurde.

In beiden Fällen blieb die Reaktion bis zum Ende alkalisch.

c) Chemische Analyse der Phenolkulturen.

Zur Feststellung der Oxydationsprodukte folgte ich in der Hauptsache dem von Fresenius vorgeschriebenen Gang. Die Kulturen wurden zunächst bakterienfrei abfiltriert, und das klare Filtrat mit Wasserdämpfen der Destillation unterworfen, sodann Destillat, Destillationsrückstand und Filterrückstand gesondert untersucht. Ich erhielt ein farb- und geruchloses Destillat neutraler Reaktion, das beim Verdunsten keinen Rückstand hinterließ.

Spez. Gew. 1,000, $AgNO_3$, $BaCl_2$, $Pb(NO_3)_2$ gaben keine Reaktion, auch nicht Ferrichlorid.

Der Destillationsrückstand auf 100 ccm eingeengt, reagierte schwach alkalisch, und war von dunkelgelber Farbe. Organische Säuren konnten nicht nachgewiesen werden.

Auch der mit verdünnter Salzsäure behandelte Filterrückstand gab, außer den durch die Nährsalze bedingten Reaktionen, kein positives Resultat. Das Phenol war vermutlich vollständig zu CO_2 oxydiert worden.

2. Die Verarbeitung des Brenzkatechins.

a) Maximalkonzentration.

Die Lösungen wurden in denselben Konzentrationen wie bei Phenol hergestellt und mit Bacterium Brenzkatechini beimpft.

Die Wachstumsgrenze liegt bei 0,075 % Brenzcatechin.

b) Menge des verarbeiteten Brenzkatechins.

Die Oxydation vollzog sich etwas rascher wie bei Phenol, indem innerhalb 28 Tagen in 500 ccm NH_4NO_3-haltiger Nährlösung 5,0 g verbraucht wurden.

Die anfänglich farblose Lösung nahm mit der Zeit eine gelblich grüne Farbe an, die gegen das Ende beinahe in Braun überging. Die Verarbeitung des jedesmal zugesetzten Brenzkatechins, das bei einem Anfangsgehalt von 0,03 % (= 0,15 : 500 ccm) mittels $FeCl_3$ sehr leicht nachzuweisen war, nahm je ca. drei Tage in Anspruch.

c) Chemische Analyse der Brenzkatechin-Kultur.

Das Destillat war wie bei der Phenolkultur farblos, spez. Gew. 1,000. Der Rückstand wurde auf dem Wasserbad auf ca. 100 ccm eingedampft, reagierte schwach sauer und wurde nach Neutralisation mit Na_2CO_3 und Kochen auf die verschiedenen, in Betracht kommenden Säuren geprüft. Es konnte jedoch, darin ebensowenig wie im Filterrückstand der Kultur, eine organische Säure nachgewiesen werden.

Der zur Trockene eingedampfte Destillationsrückstand ergab eine dunkelbraune, salzig und etwas adstringierend schmeckende Masse, die in Alkohol leichtlöslich, in Äther und Chloroform beinahe unlöslich war. Sie entwickelte bei der Behandlung mit verdünnter HCl Chlor und zersetzte KJ unter Ausscheidung von J. Vermutlich wird aus dem Brenzkatechin ein Oxychinon gebildet, dem die oxydierenden Eigenschaften zukommen.

3. Die Verarbeitung des Phlorogluzins.

a) Maximalkonzentration.

Die Versuche, welche analog den vorigen mit steigenden Konzentrationen von 0,03 % angestellt wurden, ergaben die Wachstumsgrenze bei 0,04 %.

b) Menge des verarbeiteten Phlorogluzins.

Zu diesem Versuche wurden ebenfalls 500 ccm Nährlösung verwendet.

Auf 500 ccm wurden nur 0,9 g = 0,18 % Phlorogluzin zugesetzt; zu dessen Oxydation waren 34 Tage nötig. Da die Reaktion auf Phlorogluzin mit $FeCl_3$ nicht so genau ist wie die auf Brenzkatechin, so ist der Zeitpunkt, von dem an kein Phlorogluzin mehr verarbeitet wird, nicht so genau festzustellen. Die angegebene Grenze von 0,18 % repräsentiert daher nur einen Annäherungswert.

c) Chemische Analyse der Phlorogluzin-Kultur.

Die Kultur wurde nicht der Destillation unterworfen, sondern klar abfiltriert, auf ca. 100 ccm abgedampft und nach Neutralisation mit verdünnter Salzsäure auf Säuren untersucht.

Außer ganz schwacher Reaktion auf Nitrit, bedingt durch Reduktion der Nitratlösung, konnte nichts nachgewiesen werden, so daß anzunehmen, ist, daß das Phlorogluzin wie das Phenol vollständig zu CO_2 verarbeitet wurde.

4. Verarbeitung des Benzols.

a) Maximalkonzentration.

Bacterium Benzoli vermag bei Anwesenheit von Benzol zu gedeihen, selbst wenn dieser Stoff von Anfang an in höherer Konzentration zugesetzt wird. Es wurden Konzentrationen von 1 Tropfen : 100 ccm bis 12 Tropfen : 100 ccm hergestellt, wobei das schwer lösliche Benzol auf der Oberfläche schwamm. In sämtlichen Lösungen trat nach einigen Tagen Trübung ein und das Benzol wurde schließlich verarbeitet.

Zum Nachweis, ob selbst große Mengen von Benzol der Entwicklung des Bakteriums nicht schädlich sind, wurden zwei, je 500 ccm haltende Erlenmeyerkolben mit 200 ccm Nährlösung beschickt.

Nach der Sterilisation und nachdem die Lösungen erkaltet waren, goß ich etwa 10 g Benzol darauf, so daß die Nährlösung völlig mit dem Benzol bedeckt war, und verschloß die Flaschen mit stanniolüberzogenen Korken, durch die ein bis in die Nährlösung reichendes weites Glasrohr gesteckt war, das oben einen losen Watteverschluß erhielt. Auf diese Weise war für die nötige Sauerstoffzufuhr gesorgt, indessen ein Verdunsten größerer Mengen Benzol durch den dichten Korkverschluß verhindert wurde. Beide Kolben wurden mit Bacterium Benzoli a und b beimpft und bei 25° im Thermostaten stehen gelassen.

Innerhalb 6 Tagen trat in den mit Bacterium Benzoli b beimpften Kolben Trübung ein, woraus ersichtlich ist, daß bei genügender Luftzufuhr auch größere Mengen Benzol nicht hemmend auf das Wachstum der Bakterien einwirken.

b) Menge des verarbeiteten Benzols.

Zum Nachweis des gesamten Benzolverbrauches dienten drei verschiedene Nährlösungen.

1. Die ursprüngliche Nährlösung mit NH_4NO_3,
2. eine solche mit KNO_3,
3. eine weitere mit $Ca(NO_3)_2$.

Von allen drei Lösungen wurden je zwei Liter in vierliterige Kolben gefüllt und diese mit stanniolüberzogenen Korken verschlossen. Ich öffnete sie nur dann, wenn ich den Verbrauch des Benzols auf Grund des Geruches konstatieren und neues Benzol zusetzen mußte.

Sämtliche Kulturen wurden mit dem Bacterium Benzoli b, außerdem eine NH_4NO_3-Kultur mit Bact. Benzoli a beimpft und bei 25^0 im Thermostaten stehen gelassen.

Da sich im Laufe der Versuche herausgestellt hatte, daß die ursprünglich schwach alkalischen Lösungen bereits wenige Tage nach der Beimpfung sauer reagierten, versetzte ich die NH_4NO_3- und KNO_3-haltigen Kulturen am dritten bis fünften Tage mit Calc. carb. puriss. Merck (5 g) zur Abstumpfung der jeweilen gebildeten Säure.

Die mit $Ca(NO_3)_2$ bereitete Lösung behielt die saure Reaktion bis zum Ende.

Ich erhielt folgendes Resultat:

NH_4NO_3-Kultur hatte innerhalb 34 Tagen verarbeitet	8,0 g
KNO_3-Kultur innerhalb 42 Tagen	7,0 g
$Ca(NO_3)_2$-Kultur „ 38 „	7,0 g

Voraussichtlich hätte mit dem Zusatz von Benzol noch fortgefahren werden können. Immerhin ging die Oxydation gegen das Ende zu bedeutend langsamer vor sich, wie zu Beginn.

c) Chemische Analyse der Benzolkulturen.

Die Kulturen mit NH_4NO_3 und $Ca(NO_3)_2$ wurden teils nach Fresenius (1904, S. 385), teils nach Angabe von Herrn Prof. Rupe, die mit KNO_3 nach Berg und Gerber (1896, S. 1050) untersucht.

α) NH_4NO_3-Kultur (nach Fresenius).

Nachdem die NH_4NO_3-Kultur bakterienfrei abfiltriert war, wurde sie in zwei gleiche Teile geteilt; die beiden Lösungen wurden gesondert, die eine ohne, die andere mit Zusatz von verdünnter H_2SO_4 der Destillation mit Wasserdampf unterworfen, bis je 100 ccm übergegangen waren.

Destillat I (ohne H_2SO_4) reagierte alkalisch, hatte schwachen aldehydartigen Geruch und enthielt Ammoniak und CO_2.

Destillat II (mit H_2SO_4) zeigte saure Reaktion, die von freier salpetriger Säure herrührte, neben NH_3, das als Ammonnitrit zugegen war.

Während der Destillation der Kultur ohne H_2SO_4 fand, sobald die Flüssigkeit zum Sieden kam, eine Ausscheidung statt, die nach Ab-

filtrieren und Auswaschen als $Ca(HCO_3)_2$ identifiziert wurde. Der mit H_2SO_4 behandelte zweite Teil zeigte diese Ausscheidung nicht, da durch den Schwefelsäurezusatz das vorhandene Bikarbonat bereits zersetzt worden war.

Die beiden Destillationsrückstände, von denen derjenige ohne Schwefelsäurezusatz dunkelbraune Farbe annahm, während der andere hellgelb blieb, wurden auf dem Wasserbade beinahe bis zur Trockene eingeengt und die konzentrierten Lösungen nach Kochen mit Na_2CO_3 auf Säuren geprüft.

Kalziumkarbonat erzeugte einen in Essigsäure löslichen Niederschlag, ebenso ergab der zur Trockene verdampfte Teil der Lösung nach Mohler (Fresenius, S. 329) schön weinrote Färbung.

Der ursprüngliche, die Bakterien, unzersetztes Kalziumkarbonat und eventuell Säuren enthaltende Filterrückstand wurde in verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung auf dieselbe Weise auf Säuren untersucht.

Die Reaktionen waren dieselben und aus einem Teil der zur Trockene verdampften neutralen Lösung war es möglich, mit Kalziumazetat und Essigsäure einen geringen Niederschlag zu erhalten, aus dem auf die Bildung von Weinsäure geschlossen werden müßte. Da aber aus Benzol nur Traubensäure entstehen kann, so ist anzunehmen, daß der Niederschlag Traubensäure enthielt.

β) $Ca(NO_3)_2$-Kultur.

In der auf gleiche Weise behandelten $Ca(NO_3)_2$-Kultur konnte Traubensäure nur im Filterrückstand nachgewiesen werden; ebenso war CO_2 und Nitrit zugegen, dagegen kein NH_3.

γ) KNO_3-Kultur.

Die auf etwa 100 ccm eingedampfte, klar abfiltrierte Kulturflüssigkeit, sowie der in verdünnter HNO_3 gelöste Filterrückstand wurden gesondert, nach Berg und Gerber (1896, S. 1050), mit Bleiazetat gefällt und die Niederschläge durch Einleiten von H_2S zersetzt. Hierauf wurde abfiltriert, die Lösungen nach Einengung auf 20 ccm mit überschüssigem Na_2CO_3 gekocht, neutralisiert und mit $CaCl_2$ gefällt.

Der aus der eingeengten Kulturflüssigkeit herrührende Niederschlag konnte nicht identifiziert werden, dagegen ergab die Lösung des Filterrückstandes wiederum nach Mohler deutliche Traubensäurereaktion.

δ) Eine weitere NH_4NO_3-Kultur wurde nach Angabe von Herrn Professor Rupe abfiltriert und das klare Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft. Der Filterrückstand wurde in Salzsäure gelöst, die Lösung nach Kochen mit überschüssigem Na_2CO_3 und vorsichtigem Neutralisieren mit HCl ebenfalls zur Trockene verdampft.

In beiden Fällen resultierte eine braunrote Masse, die mit starker Phosphorsäure unter Zusatz weniger Tropfen Wasser zu einem dicken Brei angerührt und mit Äther im Soxhlet-Apparate einen Tag extrahiert wurde. Hierauf wurde der Rückstand vom Äther getrennt und letzterer mit 10prozentiger Natriumkarbonatlösung wiederholt ausgeschüttelt, wodurch vorhandene organische Säuren als Natriumsalze in Lösung gehen mußten.

Nach Trennung dieser Flüssigkeiten im Scheidetrichter wurde die wässerige Lösung mit verdünnter Salzsäure genau neutralisiert, beinahe zur Trockene verdampft und mit Chlorbaryum versetzt, wobei zwar ein ganz minimaler Niederschlag entstand, der jedoch mit eigens hergestellten Kontrollniederschlägen von bernsteinsaurem, maleinsaurem oder traubensaurem Kalk nicht identifiziert werden konnte.

Der ätherische Auszug wurde abdestilliert und der ebenfalls ganz geringe gelbliche Rückstand mit einigen Tropfen Alkohol aufgenommen. Vermittelst vorsichtigem Zusatz von Ferrichlorid wurde auf Hydrochinon geprüft. Eine mit einer kleinen Quantität Hydrochinon in Alkohol hergestellte Kontrollösung ergab dieselbe Farbreaktion, weshalb es mir nicht ausgeschlossen erscheint, daß bei der Oxydation des Benzols durch Bakterien neben verschiedenen nicht mit Sicherheit festzustellenden Säuren etwas Hydrochinon entsteht.

Untersuchungen von Kempf (1911, S. 329) haben ergeben, daß bei der elektrolytischen Zersetzung des Benzols außer CO_2 und CO Hydrochinon und Chinon, sowie verschiedene organische Säuren, hauptsächlich Bernsteinsäure, Malein- und Traubensäure entstehen, je nachdem mit oder ohne Diaphragma gearbeitet wird.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Umwandlung des Benzols auf elektrolytischem und auf biologischem Wege in analoger Weise erfolgt; hierfür den Beweis zu erbringen gelang mir jedoch nicht, da es eben sehr schwierig ist, bei dem von Tag zu Tag wechselnden Stand der Oxydation, sowie den verhältnismäßig kleinen Mengen des auf biologischem Wege verarbeiteten Benzols die Zwischenprodukte zu fassen. Außer dem Endprodukt, der Kohlensäure, vermochte ich deshalb die verschiedenen Zwischenprodukte der Oxydation nicht mit Sicherheit zu konstatieren.

5. Verhalten zu Oxyphenolen.

Nachdem von den oben erwähnten, mit Pinuswurzel beimpften Nährlösungen, welche Zusätze der verschiedenen Oxyphenole enthielten, nur die mit Brenzkatechin und Phlorogluzin beschickten Lösungen getrübt worden waren, habe ich Versuche darüber angestellt, ob die aus den anderen Derivaten und aus Benzol isolierten Bakterien imstande seien, auf diesen Lösungen zu wachsen.

Zu diesem Zweck beimpfte ich je 100 ccm Nährlösung nach Zusatz von je 0,01 % Resorzin, Brenzkatechin, Hydrochinon, Pyrogallol und Phlorogluzin mit sämtlichen neuen Bakterien.

Die unten stehende Tabelle veranschaulicht das Wachstum derselben auf den Oxyphenolen und auf Benzol.

Tabelle 1.

+ = Wachstum; — = kein Wachstum.

	Bacterium Phenoli a	Bacterium Phenoli b	Bacterium Phenoli c	Bacterium Brenz-catechini	Bacterium Phloroglucini	Bacterium Benzoli a	Bacterium Benzoli b
Benzol	—	—	—	—	—	+	+
Phenol	+	+	+	+	—	+	+
Brenzkatechin . .	+	—	—	+	—	+	+
Resorzin	—	—	—	—	—	—	—
Hydrochinon . .	—	—	—	—	—	—	—
Pyrogallol . . .	—	—	—	—	—	—	—
Phlorogluzin . .	—	—	—	—	+	—	—

Daraus geht hervor, daß, während Benzol, Phenol und Brenzkatechin von mehreren Bakterien zersetzt werden, dies bei den anderen Oxyphenolen nicht, oder in geringem Maße der Fall ist.

6. Verhalten zu einigen komplizierten Benzolabkömmlingen, Terpenen und Alkaloiden.

a) Komplizierte Benzolabkömmlinge.

Um zu konstatieren, ob das eine oder andere der neuen Bakterien auch imstande sei, noch kompliziertere Ringe zu spalten, wurden nachfolgende Lösungen mit den drei Phenolbakterien und den beiden Benzolbakterien beimpft: Anilin 1 Tropfen : 100 ccm, Anthracen 0,01 : 100 ccm, Antipyrin 0,01 : 100 ccm, Guajakol 1 Tropfen : 100 ccm, Kreosot 0,01 zu

100 ccm, Naphthalin 0,01 : 100 ccm, Naphthol 0,01 : 100 ccm, Nitrobenzol 1 Tropfen : 100 ccm, Phenolsulfosaures Kali (ortho, meta und para) je 0,01 : 100 ccm, Phenolsulfosaures Zink 0,01 : 100 ccm, Sulfoguajakolsaures Kali 0,01 zu 100 ccm, Xylol 1 Tropfen : 100 ccm, Toluol 1 Tropfen : 100 ccm.

Während die meisten der Lösungen noch nach 14 Tagen klar waren, hatte das Benzolbacterium b die mit Toluol und Xylol versetzten Lösungen bereits innerhalb 2 Tagen getrübt, und die ursprünglich schwach alkalische Reaktion gerade wie diejenige der Benzollösungen durch Säurebildung bald in eine saure Reaktion verwandelt.

In den mit Guajakol versetzten Lösungen trat die Trübung nach 5 Tagen ein, auch hier wurde sie durch Bacterium Benzoli b veranlaßt.

Die Verarbeitung des Toluols ging besonders rasch vor sich, indem innerhalb 8 Tagen 10 Tropfen in 100 ccm verbraucht waren, was am Verschwinden des Geruches leicht zu erkennen war.

b) Terpene.

Die Versuche, die Benzolbakterien auf Nährlösungen, denen Terpene zugesetzt waren, zum Wachsen zu bringen, schlugen (mit einer Ausnahme) fehl. Geprüft wurden: Kampfer (0,03 %), Menthol (0,03 %), Terpinhydrat (0,03 %), Kümmelöl 1 Tropfen : 100 ccm, und in gleicher Konzentration: Terpentinöl, Latschenkieferöl, Thymianöl.

Deutliche Trübung trat nur bei Menthol ein mit Bacterium Benzoli b, während bei sämtlichen übrigen Terpenen, trotz wiederholtem Nachimpfen, kein Wachstum zu erzielen war.

c) Alkaloide.

Gänzlich resultatlos verliefen die Versuche, Alkaloide mit den neuen Bakterien zu zersetzen.

Es wurden Lösungen von Atropin, Cevadin, Kokain, Kolchicin, Koniin, Morphin, Nikotin, Solanin und Strychnin (resp. deren Salze) in Konzentrationen von 0,01 : 100 hergestellt und mit den drei Phenol- und beiden Benzolbakterien beimpft; nirgends trat Trübung ein.

7. Verhalten zu Kohlenwasserstoffen der aliphatischen Reihe, zu organischen Säuren und diversen anderen Nährlösungen.

a) Aliphatische Kohlenwasserstoffe.

Nachfolgende Kohlenwasserstoffe wurden in Konzentrationen von je 1 Tropfen : 100 ccm Nährlösung mit den beiden Benzolbakterien beimpft: Benzin, Petroläther, Petroleum roh.

Bereits am dritten Tage war das Rohpetroleum mit Benzolbacterium b getrübt. Auch Bacterium Benzoli a rief Trübung hervor und nach 8 Tagen war das Petrol in beiden Lösungen verbraucht. Benzin war von Bacterium b nach 6 Tagen oxydiert. während sich die Petroläther-haltige Flüssigkeit erst nach 8 Tagen trübte.

Demnach zersetzen die Benzolbakterien auch Kohlenwasserstoffe der aliphatischen Reihe.

Gerade vor Drucklegung meiner Arbeit kam mir eine Publikation von N. L. Söhngen (1913 S. 599) in die Hände, die verschiedene neue Mikroben behandelt, welche Benzin und Petroleum verarbeiten.

Wiewohl dieselben mit den von mir beschriebenen Bacterium Benzoli a und b manche Ähnlichkeiten aufweisen, weichen sie doch in verschiedenen Punkten wesentlich ab, insbesondere was Form und Bau der Kolonien sowie die Assimilation verschiedener organischer Säuren anbelangt.

Involutionsformen mit keulenförmigen Anschwellungen und Verdickungen sind bei den Bakterien von Söhngen eine allgemeine Erscheinung, während von meinen Benzolbakterien nur Bacterium Benzoli b auf Agarkulturen mit Kreide vereinzelte Involutionsformen zeigte. Beweglichkeit konnte selbst bei ganz jungen Kulturen in keinem Falle festgestellt werden. Die Pigmentbildung der Benzolbakterien auf Peptonagar ist eine geringe, der Belag zeigt bei beiden beinahe keine Färbung, während der Bodensatz mehr oder weniger gefärbt ist.

Bacterium Benzoli a erträgt Erhitzen auf 60^0 während 1 Minute
„ „ b „ „ „ 80^0 „ 1 „

Beide Bakterien sind zum Unterschied von den Söhngenschen weder säure- noch säurealkoholfest.

b) Verschiedene organische Säuren.

Die neutralisierten Lösungen verschiedener organischer Säuren wurden in einer Konzentration von 0,05 % mit folgenden Bakterien beimpft.

Tabelle 2.

+ bedeutet Trübung resp. Wachstum; — bedeutet kein Wachstum.

	Salz	Phenol-bacterium a	Brenz-bacterium	Phloregluzin-bacterium	Benzol-bacterium b
Ameisen-Säure . .	Na	—	—	—	—
Äpfel- „ . .	Ca	+	+	+	—
Benzoe- „ . .	Na	+	+	+	—

Fortsetzung der Tabelle 2.

	Salz	Phenol-bacterium a	Brenz-bacterium	Phlorogluzin-bacterium	Benzol-bacterium b
Bernstein-Säure . .	Na	—	—	—	—
Butter- „ . .	Na	—	—	+	+
China- „ . .	Na	—	—	—	—
Essig- „ . .	NH_4	+	+	+	+
Gallus- „ . .	Na	—	—	—	—
Glykol- „ . .	Na	—	—	—	—
Hippur- „ . .	NH_4	+	—	—	+
Milch- „ . .	Ca	+	+	+	+
Oxal- „ . .	NH_4	—	—	—	—
Paraban- „ . .	NH_4	—	—	—	—
Salizyl- „ . .	Na	—	wenig trübe	+	+
Wein- „ . .	Ca	+	+	—	+
Zitronen- „ . .	Na	+	+	+	+

Um das Verhalten der Benzolbakterien zu Nährlösungen, die für das Wachstum anderer Bakterien günstig sind, zu prüfen und das Wachstum in denselben Lösungen nach Zusatz von Phenol zu vergleichen, wurden folgende wässerige Lösungen: 1. Ammontartrat 1 %, 2. Ammontartrat und Glyzerin je 0,5 %, 3. Asparagin-Rohrzucker je 0,5 %, 4. Asparagin 0,5 %, 5. Natriumnitrat und Glyzerin je 0,5 %, 6. Peptonlösung 1 %, 7. Pepton-Rohrzucker je 0,5 %, 8. Pepton und Natriumnitrat und Natriumzitrat je 0,5 % zum Teil ohne Phenol, zum Teil nach Zusatz von 0,03 % Phenol mit den Phenolbakterien a, b und c beimpft.

In sämtlichen Lösungen ohne Phenol fand gutes Wachstum statt, ausgenommen in Nr. 4, die nur schwach getrübt wurde. Alle phenolhaltigen Lösungen zeigten, mit Ausnahme von Nr. 5 eine Trübung.

IV. Verhalten verschiedener anderer Bakterien gegen Phenol, Benzol und einige Derivate derselben.

Bei der großen Verbreitung der Benzolbakterien lag nun noch die Frage nahe, ob auch irgend welchen anderen Bakterien die Fähigkeit zukomme, Phenole zu zersetzen. Es wurde deshalb zunächst eine Serie der häufigeren Bakterien auf ihr Verhalten gegen die Benzolderivate geprüft.

a) Phenol und Phenolnatrium.

Je zwei Kölbchen mit einer Nährlösung, die 0,03 % Phenol, resp. 0,05 % Phenolnatrium als alleinige Kohlenstoffquelle enthielt, wurden

mit folgenden Bakterien beimpft: Bacillus anthracis F. Cohn et Koch, B. extorquens Bassalik (1913, S. 255), B. mycoides Flügge, B. prodigiosus Flügge, B. Proteus vulgaris Hauser, B. pyocyaneus Flügge, B. subtilis Cohn, B. vulgatus Migula, Bacterium coli L. N., Sarcina aurantiaca Flügge, Streptothrix alba L. N.

Mit Ausnahme der mit Bacterium extorquens geimpften, blieben sämtliche Lösungen klar.

b) Brenzkatechin und Phlorogluzin.

Je 0,03 %-ige Nährlösungen, welche je 0,03 % Brenzkatechin oder Phlorogluzin enthielten, wurden mit folgenden Bakterien beimpft: Bacillus anthracis, B. extorquens, B. mycoides, B. pyocyaneus, B. subtilis, B. vulgatus, Bacterium coli, Diplococc. roseus Flügge, Sarcina aurantiaca, Staphyloc. aureus Rosenbach, St. citreus Passet.

Sämtliche Lösungen blieben klar, diejenigen ausgenommen, welche Brenzkatechin enthielten und mit Bacillus extorquens beimpft waren.

c) Benzol.

Die Nährlösung mit Benzol (1 Tropfen : 100 g) wurde beimpft mit: Bacillus extorquens, B. mycoides, B. prodigiosus, B. proteus, B. pyocyaneus, B. subtilis, B. vulgatus, Diploc. roseus, Sarcina aurantiaca, Spirill. volutans Ehrenberg, Staphyloc. albus, St. aureus, St. citreus, Streptothrix alba, Vibrio fluorescens, Vibrio Finkler.

Auch diese Lösungen blieben sämtlich klar.

Da die Versuche auf Minerallösung durchweg negativ ausgefallen waren, wurde eine weitere Serie der häufigeren unten angeführten Bakterien in 1 % Peptonbouillon, der 0,03 % Phenol resp. 0,05 % Phenolnatrium beigegeben war, geimpft, um zu sehen, wie sie sich hier verhalten und ob sie bei anfänglicher Darbietung einer zugänglicheren Kohlenstoffquelle das Phenol schließlich doch verarbeiten können.

So wurden je zwei Kölbchen mit 20 ccm Bouillon mit folgenden Bakterien beimpft: Bacillus anthracis, B. prodigiosus, B. pyocyaneus, B. subtilis, B. vulgatus, Bacterium coli, Diplococc. roseus, Spirill. volutans, Staphyloc. cereus Passet, St. albus, St. aureus, St. citreus, Vibrio Proteus.

Zwei zur Kontrolle unbeimpfte Kölbchen, die mit den übrigen in den Thermostaten von 25° gestellt wurden, blieben klar, ebenso die mit

Vibrio Proteus und Bacillus vulgatus beimpften Kulturen, während sämtliche übrigen nach zwei Tagen getrübt waren.

Es wurden nun Versuche mit höheren Konzentrationen von 0,1 bis 0,15 % Phenol angestellt und da sich auch diese Lösungen innerhalb weniger Tage trübten, stieg ich, um die obere Grenze der zulässigen Anfangskonzentration des Phenols festzustellen, bei den beiden sich am raschesten trübenden Bakterien: Bacillus anthracis und B. subtilis bis zu 0,3 % reinem Phenol.

Bacillus anthracis wuchs bei einer Anfangskonzentration von 0,03 % bis 0,15 %, Bacillus subtilis bis 0,25 %. Um zu prüfen, ob bei diesem guten Wachstum bei verhältnismäßig hoher Phenolkonzentration die Bakterien auch das Phenol zersetzten, impfte ich je 200 ccm Bouillon, die 0,03 % Phenol enthielten, mit beiden Bakterien.

Nach eingetretener Trübung wurde alle 2—3 Tage auf etwa noch vorhandenes Phenol geprüft.

Da sowohl Eisenchlorid als auch Bromwasser mit Bouillon ohne Phenol beinahe dieselben Farbreaktionen und Niederschläge geben wie mit Bouillon mit Phenol, wurden jeweilen 5 ccm der Bouillon mit steriler Pipette entnommen, filtriert und mit gleichen Teilen Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers wurde der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit Bromwasser versetzt. Trotz dem energischen Wachstum der Bakterien war jedoch selbst nach Wochen noch Phenol vorhanden, weshalb wohl angenommen werden darf, daß dasselbe auch in schwacher Konzentration in voller Nährlösung durch die gewöhnlichen Bakterien nicht verarbeitet wird.

Dagegen wird das Phenol in Bouillon, wenn auch langsamer als in anorganischer Nährlösung, durch die Benzolbakterien oxydiert.

Eine 0,01 prozentige Bouillon erwies sich 7 Tage nach Beimpfung mit Bacterium Phenoli a phenolfrei. Bei einer Konzentration von 0,03 % war das Phenol nach 8 Tagen noch nicht verschwunden; zur vollständigen Oxydation wurden 15 Tage beansprucht, während in anorganischer Nährlösung durchschnittlich 0,15 % in 14 Tagen verarbeitet wurden.

Daraus scheint hervorzugehen, daß entgegen der Ansicht der Herren Fowler, Andern und Locket (1911, S. 149 ff.), die eine völlige Oxydation des Phenols in Peptonlösung, und wenigstens eine teilweise Oxydation in anorganischer Nährlösung (mit geringem Bouillonzusatz) konstatiert haben, die Verarbeitung von Phenol durch spezifische Bakterien bei Abwesenheit jeglicher Kohlenstoffquelle vollständig erfolgt und viel rascher vor sich geht, als bei Gegenwart von Pepton oder einer andern Kohlenstoffquelle.

V. Theoretisches.

Die vorliegenden Untersuchungen haben ergeben, daß sich in der Natur Organismen vorfinden, denen die Fähigkeit zukommt, Benzol und Phenole zu verarbeiten, wie dies aus folgender Tabelle ersichtlich ist:

Tabelle 3.

Spezies	Verarbeitete Körper	Zersetzungsprodukt
Bacterium Phenoli a	Phenol	wahrscheinlich nur CO_2
„ „ b	Phenol	nicht untersucht, wahrscheinlich nur CO_2
„ „ c	Phenol	
Bacterium Brenzcatechini	Brenzkatechin	zu CO_2 und wahrscheinlich auch zu Oxychinon oxydiert
Bacterium Phloroglucini	Phlorogluzin	wahrscheinlich nur CO_2
Bacterium Benzoli a	Benzol	wahrscheinlich über Fettsäuren zu CO_2
	Phenol	nicht untersucht
	Brenzkatechin	
	Rohpetroleum	
Bacterium Benzoli b	Benzol	wie Bact. Benzoli a
	Phenol	nicht untersucht
	Brenzkatechin	
	Toluol	
	Xylol	
	Guajacol	
	Rohpetroleum	
	Benzin	
	Petroläther	

Hieraus ergibt sich die interessante Tatsache, daß der Benzolkern, der bisher nur durch chemische Agentien gespalten werden konnte, auch durch Organismen zerlegt wird. Diese verwenden den Kohlenstoff des Benzols und der Phenole als Kohlenstoffquelle.

Es ist nun zu untersuchen, ob eine direkte Beziehung zwischen der Konstitution der untersuchten Verbindungen und ihrer Spaltbarkeit durch Bakterien festgestellt werden kann.

Die Versuche haben ergeben, daß andere als die in Tabelle 1 aufgeführten Benzolderivate, also z. B. Resorcin, Hydrochinon oder kompliziertere Ringe wie Anilin, Naphthalin, Anthracen usw. nicht gespalten werden.

Dagegen wurden Phenol und Phloroglucin verarbeitet und zwar wahrscheinlich direkt zu CO_2: Brenzkatechin ebenfalls zu CO_2 und wahrscheinlich zu einem Oxychinon; Benzol über Fettsäuren zu CO_2.

Bei diesen Resultaten ist es auffallend, daß aus dem Brenzkatechin neben CO_2 eine höhere aromatische Verbindung entsteht. Dies ist um so interessanter, als die Bildung von Chinonen in der Regel aus Paraderivaten erfolgt. Ob nun bei der Spaltung durch Bakterien das Brenzkatechin aus der Ortho- zuerst in die Parastellung übergeht, entzieht sich unserer Kenntnis.

Auch die Verarbeitung des Benzols zu CO_2 bietet Interesse. Gerade, wie sich die Zersetzung des Benzols auf chemischem Wege nur in saurer Lösung vollzieht, so wird auch den Bakterien die Spaltung desselben bei saurer Reaktion erleichtert, wiewohl die Bakterien auch auf alkalischen Nährböden zu wachsen vermögen.

Die verschiedenen Prozesse, die sich bei der Oxydation des Benzols abspielen, konnten durch die vorliegenden Untersuchungen nicht genau festgestellt werden. Soviel scheint jedoch sicher zu sein, daß die Oxydation zu CO_2 nicht direkt vor sich geht, sondern daß entweder zunächst Hydrochinon und aus diesem über Fettsäuren CO_2 gebildet wird; oder daß das Benzol mit Umgehung des Hydrochinons direkt in Fettsäuren und diese in CO_2 umgewandelt werden.

Es ist nun noch zu erörtern, ob zwischen der Konstitution der zersetzten Verbindungen und ihrer Spaltbarkeit durch die Bakterien ein gewisser Zusammenhang besteht. Tabelle 1 liefert den Beweis, daß der Benzolkern ohne Seitenkette weniger leicht angegriffen wird als ein solcher mit OH-Gruppen, und ferner, daß die Stellung der OH-Gruppen der Einwirkung der Bakterien verschiedenen Widerstand entgegenstellt, wird doch das Phenol am leichtesten und zwar — mit Ausnahme des Phlorogluzinbakteriums — von sämtlichen Benzolbakterien zersetzt, während Benzol selbst nur von den zwei spezifischen Benzolbakterien: Bacterium Benzoli a und b gespalten wird, nicht jedoch durch die Phenol-, Brenzkatechin- und Phlorgluzinbakterien.

Bei Prüfung der Frage, ob die Stellung der OH-Gruppen einen Einfluß auf die Spaltbarkeit hat, sehen wir, daß außer dem Phenol zunächst das Orthodioxybenzol, das Brenzkatechin angegriffen wird, während die beiden anderen Dioxyphenole in Meta- und Parastellung nicht zersetzt werden[1]). Die Trioxyphenole entziehen sich der Ein-

---

[1]) Regenstein (1912, S. 296) konnte eine Resistenz von Bakterien, die an Phenol gewöhnt waren, wohl gegenüber Phenol feststellen, nicht aber gegen Resorcin und Hydrochinon. Wenn es sich auch bei meinen Versuchen um die verschiedene Zersetzbarkeit, bei denen von Regenstein um verschiedenen Grad der Resistenz von Bakterien gegenüber den Phenolen handelt, so scheinen doch zwischen meinen Resultaten und denjenigen von Regenstein gewisse Analogien zu bestehen.

wirkung ganz, abgesehen von Phlorogluzin, das aber nur durch ein Bakterium und in verhältnismäßig geringem Maße zerlegt wird; es scheint somit, daß mit der Häufung der OH-Gruppen die Oxydierbarkeit der Oxyphenole abnehme.

Aus allem geht hervor, daß bei Orthostellung die Spaltung durch die Bakterien am leichtesten vollzogen wird und daß die Verarbeitung um so vollständiger erfolgt, je weniger OH-Gruppen eine Verbindung aufweist.

In bezug auf die Zersetzbarkeit der Methylverbindungen des Benzols und des Brenzkatechins, die, wie aus S. 309, 310 ersichtlich ist, ebenfalls von Bakterien zersetzt werden, ist es schwierig, sich Klarheit darüber zu verschaffen, wo das Molekül angegriffen wird, ob im Kern, oder an der CH_3-Gruppe. Immerhin scheinen diese Verbindungen neben denjenigen, welche nur Hydroxylgruppen enthalten, am ehesten der Verarbeitung durch die Bakterien zugänglich zu sein. Quantitative Untersuchungen und Vergleiche in Bezug auf Menge der zersetzten Substanz und die dazu nötige Zeit könnten noch weitere Einblicke gewähren. Diese Untersuchungen lagen jedoch nicht im Plan meiner Arbeit; auch waren die Kulturen aus äußeren Gründen nicht unter gleichen Temperatur- und Lichtverhältnissen gehalten worden, die Resultate sind somit nicht vergleichbar.

VI. Benzolbakterien im Haushalt der Natur.

Den in der Natur weit verbreiteten Bakterien kommt ohne Zweifel ein wichtiger Anteil an der Oxydation von Kohlenwasserstoffen und Phenolen zu, die auf irgend welchem Wege in den Boden gelangen.

So läßt sich die Oxydation des Phenols, das bei der weitverbreiteten Verwendung von Karbolineum und ähnlichen technischen Konservierungsmitteln in die Atmosphäre und in den Boden gelangt, durch die Arbeit der Benzolbakterien erklären.

Desgleichen macht uns ihre weite Verbreitung verständlich, auf welche Weise die schwer oxydablen Kohlenwasserstoffe, wie Benzin und Petroleum, die in so weitgehendem Maße als Betriebsenergie von Motoren und Fahrzeugen Verwendung finden und schließlich in großen Mengen wieder in den Boden gelangen, zum Verschwinden gebracht werden.

Ebenso lassen die Benzolbakterien manche der giftigen Benzolderivate, die aus tierischen Exkrementen stammen, verschwinden und setzen den schädlichen Einfluß, den diese Stoffe auf die höheren Pflanzen ausüben, herab oder schalten ihn ganz aus. Auch zum Menschen treten die Benzolbakterien in mannigfache Beziehung:

Berthelot und M. Bertrand (1911, S. 232) haben aus Faeces kranker Menschen Bakterien gezüchtet, die Tyrosin unter Bildung von Phenol verarbeiten. Diese beiden Autoren bringen nun ihren Befund mit den Metschnikowschen Anschauungen über die Vergiftung des Organismus mit den im Darm erzeugten Giften, darunter als einem der wichtigsten dem Phenol, in Zusammenhang. Wie meine Untersuchungen gezeigt haben, finden sich aber im Darm auch solche Bakterien in großer Individuenzahl vor, die das Phenol vollständig zu verarbeiten vermögen, somit für den Organismus wieder unschädlich machen.

Bei der ausgedehnten Anwendung, die das Phenol auch heute noch zu Desinfektionszwecken in der Medizin findet, ist auch die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß dasselbe, besonders in schwächeren Konzentrationen von den überall — also auch leicht in Wunden vorkommenden Benzolbakterien oxydiert werden kann. Die Konzentration des Phenols müßte jedenfalls stets so hoch gewählt werden, daß sie auch das Wachstum der Benzolbakterien zu verhindern vermag.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Aus Erde, Staub und zahlreichen tierischen Exkrementen wurden 7 Bakterienspezies isoliert. Dieselben vermögen als alleinige Kohlenstoffquelle unter Spaltung des Benzolkerns zu verwenden:
   a) Phenol: zu CO_2 oxydiert,
   b) Phlorogluzin: zu CO_2 oxydiert.
   c) Brenzkatechin: in eine höhere Oxydationsstufe, wahrscheinlich Oxychinon verwandelt.
   d) Benzol: zu Fettsäuren, resp. CO_2 oxydiert.
2. Von komplizierten aromatischen Kohlenwasserstoffen und Verbindungen werden durch die Bakterien zerlegt:
   Toluol und Xylol,
   außerdem Guajacol.
   Alkaloide und Terpene werden mit Ausnahme von Menthol nicht angegriffen.
3. Die Benzolbakterien wachsen in fast allen gebräuchlichen Bakteriennährlösungen, organischen Säuren und selbst auf Kohlenwasserstoffen der aliphatischen Reihe, wie Benzin, Petrol und Petrolbenzin.
4. Andere weitverbreitete Bakterien wachsen in anorganischer Nährlösung mit Phenol nicht; dagegen in voller Nährlösung auch bei Gegenwart von ziemlich großen Mengen von Phenol.

5. Phenole werden leichter zersetzt wie Benzol selbst. Die Stellung der OH-Gruppen am Benzolkern scheint bei der Zersetzung durch Bakterien von Einfluß zu sein: Phenol wird am leichtesten angegriffen, Dioxyphenol hauptsächlich in Orthostellung.
6. Die Benzolbakterien sind imstande, die aus dem Organismus stammenden und durch die Technik in den Boden gelangten Benzolverbindungen wieder in den Kreislauf der Stoffe einzuführen.

Literatur-Verzeichnis.

1910. Altmann, K. und Rauth, A, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, Orig., 7, S. 629.
1913. Bassalik, K., Über Verarbeitung der Oxalsäure durch Bacillus extorquens. Jahrb. f. wiss. Bot., **53**, S. 255.
1911. Baudet, Edm. und s'Gravenhage, Arthur René Floribert, Asporogene Milzbrandbacillen. Centralbl. f. Bakt., Orig., **60**, Heft 6, S. 472.
1896. Berg und Gerber, Sur la recherche de quelques acides organiques dans les plantes. Bulletin de la société chimique de Paris, **15**, S. 1050.
1911. Berthelot und Bertrand, M., Recherches sur la flore intestinale. Comptes rend. de la société de biologie, **63**, II, S. 232—235.
1883. Chamberland und Roux, Sur l'atténuation de la virulence de la bactéridie charbonneuse sous l'influence des substances antiseptiques. Compt. rend. de l'académie d. Sciences **96**, II, S. 1088 ff.
1905. Czapek, Fr., Biochemie der Pflanzen, II, S. 541.
1911. Gilbert, Fowler, Andern, J. Ed. und Lockett, William F. The oxidation of Phenol by certain Bacteria in Pure Culture. Procedings of the Royal society of London, Ser. B, Vol. B, S. 149.
1904. Fresenius, Qualit. chem. Analyse, S. 435 ff.
1911. Kempf, R., Elektrolytische Oxydation von p-Benzochinon. Journ. f. prakt. Chemie, N. F., **83**, S. 329 ff.
1911. Kossowicz, Al., Mykologische und warenkundliche Notizen. Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, 1911, S. 69.
1912. Lehmann, K. O. und Neumann, Bakter. Diagnostik (Lehmanns med. Handatlanten), München, 5. Aufl.
1897. Migula, System der Bakterien, II, 1900.
1898. Möller, A. Mikroorganismen, die den Tuberkelbazillen verwandt sind und bei Tieren eine miliäre Tuberkelkrankheit verursachen. Deutsche Med. Wochenschr., S. 376.
1881. Nägeli, Botan. Mitteilungen, **3**, S. 431.
1912. Regenstein, H. Studien über Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel. Centralbl. f. Bakt., **63**, S. 286.
1913. Söhngen, N. L., Benzin, Petroleum, Paraffinöl als Kohlenstoff- und Energiequelle für Mikroben. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **37**, S. 595 ff.

Referate.

Niklewski, Br. Über die Wasserstoffaktivierung durch Bakterien unter besonderer Berücksichtigung der neuen Gattung Hydrogenomonas agilis [IV]. Jubil.-Schrift f. Prof. Dr. E. Godlewski sen., Krakau. Orig.-Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 430.

Auch unter Luftabschluß kann der Wasserstoff unter Aufspaltung von Nitraten oder Sulfaten oxydiert werden. Sulfat reduzierend wirkt Hydrogenomonas minor, die noch nicht sicher rein gezüchtet werden konnte. Die denitrifizierende Art wurde Hydrog. agilis benannt und eingehend untersucht. Nach Verf.s Ansicht sollte hier allerdings nicht von Denitrifikation, sondern von Hydrogenisation des Salpeters gesprochen werden. Der Prozeß verläuft auch aerob. Die auch zu heterotropher Lebensweise befähigte Hydrog. agilis ist wahrscheinlich identisch mit dem von Lebedeff studierten Organismus.

Löhnis.

Löhnis, F. Die Titration der Milch mit Alkohol von verschiedener Konzentration. Molk.-Ztg. Hildesheim 28, 1914, S. 153—155.

Zur Ermittelung der Veränderungen in der Gerinnungsfähigkeit der Milch wurde die Titration mit Alkohol von verschiedener Konzentration in Anwendung gebracht. Die frische Milch der einzelnen Kühe liefert (infolge chemischer Differenzen) mehr oder minder abweichende Werte. Mischmilch gibt dagegen ziemlich konstante Zahlen, an deren Änderung weiterhin der Einfluß säure- und labproduzierender, wie auch andererseits eiweißlösender Bakterien deutlich erkannt werden kann. In Handelsmilch ergibt sich infolgedessen ein ziemlich vollständiger Parallelismus zwischen Keimgehalt und Alkoholzahl. In der Regel waren zur Koagulation erforderlich für je 2 ccm

keimarmer Milch (mit weniger als 50 000 Bakterien)	mehr als 4 ccm	80 proz.	Alkohol,
Milch mit 50 000—5 000 000 Bakterien	2—4 „	„	„
„ „ 5—50 Millionen „	weniger als 2 „	„	„
„ „ mehr als 50 Millionen Bakterien	„ „ 2 „	70 proz.	„

Löhnis.

Gärungsphysiologisches Laboratorium Alfred Jörgensen

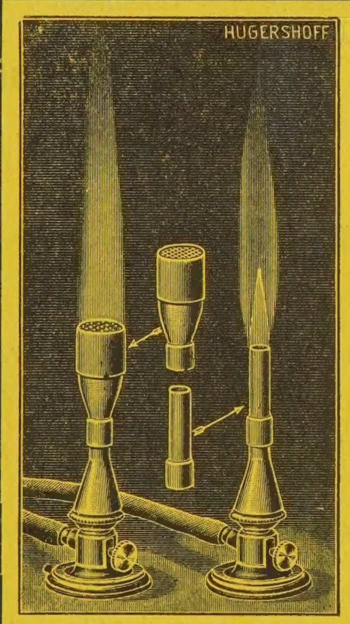
Kopenhagen V (Frydendalsvej 30) **Dänemark**

Gärungsphysiologisches Praktikum

für Anfänger und weiter Vorgeschrittene

Analytisches Laboratorium :: Reinzucht-Abteilung

:: Betr. Programme und näherer Auskunft wende man sich an den Direktor ::



Neuer Laboratoriums-Brenner

Hugershoff

Apparate und Geräte für

Laboratoriums-Bedarf

Sämtliche Apparate u. Geräte für

Gärungs-Physiologie

Aufnahme neuer Apparate
in Fabrikation u. Vertrieb

Preislisten,
Prospekte und
Kosten-
anschläge
gratis



Verlag von Gebrüder Borntraeger in Berlin
W 35 Schöneberger Ufer 12a

Biochemisches Taschenbuch. Ein Hilfsbuch für Biologen, Nahrungsmittel- und Agrikulturchemiker, Pharmazeuten usw. von **Dr. W. Glikin.** In Leder gebunden 8 Mk. 50 Pfg.

Das Taschenbuch ist ein außerordentlich praktisches und nützliches Hilfsbuch bei allen Arbeiten des Biochemikers. Es bringt in übersichtlicher Zusammenstellung und großer Reichhaltigkeit täglich am Arbeitstisch gebrauchte Tabellen, praktisch erprobte Vorschriften, Angaben für Untersuchungen, wie die des Harns, der Milch usw.

Ausführliche Verlagsverzeichnisse kostenfrei

Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe von **Professor Dr. Alexander Kossowicz**, Privatdozent an der Technischen Hochschule in Wien. Mit 21 Abbildungen im Text und fünf Tafeln. Gebunden 5 Mk.

Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie von **Professor Dr. Alexander Kossowicz.** Mit 2 Tafeln und 50 Textabb. Gebunden 7 Mk.

Einführung in die Mykologie der Gebrauchs- und Abwässer von **Professor Dr. Alexander Kossowicz.** Mit 62 Textabbildungen. Gebunden 7 Mk. 60 Pfg.

Einführung in die Agrikulturmykologie von **Professor Dr. Alexander Kossowicz.**

I. Teil: **Bodenbakteriologie.** Inhalt: Kreislauf der Elemente, besonders des Stickstoffs, unter Mitwirkung von Mikroorganismen, Eisenbakterien, Schwefelbakterien, Mykologie des Bodens und des Düngers. Mit 44 Abbildungen. Gebunden 5 Mk.

In Vorbereitung befinden sich:

II. Teil: **Die Pilzkrankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.** Inhalt: Morphologie, Systematik und Physiologie der phytopathogenen Pilze; durch Pilze verursachte Krankheiten der Gemüsepflanzen, der Getreidepflanzen, der Obstbäume usw. und deren Bekämpfung. Mit zahlreichen Abbildungen.

Einführung in die Mykologie der Lederfabrikation, der Textilpflanzen und des Holzes von **Professor Dr. Alexander Kossowicz.**

Lehrbuch der Chemie, Bakteriologie und Technologie der Nahrungs- und Genußmittel von **Professor Dr. Alexander Kossowicz.** Mit 225 Textabbildungen.

Unter der Presse

Ausführliche Verlagsverzeichnisse kostenfrei

Buchdruckerei E. Buchbinder (H. Duske) Neuruppin.